

L68: Entry 5 of 7

File: DWPI

Apr 4, 1995

DERWENT-ACC-NO: 1995-167187

DERWENT-WEEK: 199522

COPYRIGHT 2003 DERWENT INFORMATION LTD

TITLE: Isolating and purifying ginsenoside-Re used in anti-arrhythmia agent - comprises extn. of medicinal plants using (aq.) (m)ethanol or water, concn. of extracts and subjecting to resin column chromatography, etc.

PATENT-ASSIGNEE:

ASSIGNEE	CODE
MORISHITA ROUSSEL KK	MORP
SHINYO YAKUGAKUIN	SHINN

PRIORITY-DATA: 1993JP-0261952 (September 24, 1993)

PATENT-FAMILY:

PUB-NO	PUB-DATE	LANGUAGE	PAGES	MAIN-IPC
JP 07089863 A	April 4, 1995		004	A61K035/78

APPLICATION-DATA:

PUB-NO	APPL-DATE	APPL-NO	DESCRIPTOR
JP 07089863A	September 24, 1993	1993JP-0261952	

INT-CL (IPC): A61 K 35/78; C07 J 17/00; C07 J 75/00

ABSTRACTED-PUB-NO: JP 07089863A

BASIC-ABSTRACT:

Process comprises (A) extn. of medicinal plants using (aq). methanol, (aq.) ethanol or water; (B) concn. of the extracts; (C) subjecting the extracts to resin column chromatography, using water to eliminate solvent, followed by elution using aq. methanol or aq. ethanol; (D) concentrating the solvent to give crystals and (E) purification by recrystallisation.

Also claimed is an anti-arrhythmia agent contg. gensenoside-Re.

Pref. medicinal plants are roots, leaves, buds and fruits of ginseng, sanshichiningin and snake gourd. The amt. of water in aq. methanol or aq. ethanol lis 10-40 (v/v)% when used in the extn. and 50-80 (v/v)% when used in elution for column chromatography. Ginsenoside-Re is formulated into tablets, (fine) granules and capsules for oral admin., or into an injection.

ADVANTAGE - Gensenoside-Re is easily and cheaply isolated and purified from medicinal plants, and the method is carried out on an industrial scale. The anti-arrhythmia agent has good efficiency and safety.

The daily dosage of gensenoside-Re is 30-600 mg for oral admin., and 10-200 mg for intravenous admin., 1-3 times a day.

In an example, buds (5 kg) of ginseng were extracted with 70 % ethanol (50 L) and (30 L) respectively, and the obtd. extracts were conc. in vacuo. The conc. soln. was subjected to resin column chromatography, and eluted with 30 % ethanol (30 L) after eluting with distilled water (30 L). The ethanol fraction was conc. in vacuo and kept still for 24 hrs. to obtain crude crystals, which were recrystallised from 70 %

methanol to give 38 g of ginsenoside-Re as colourless needles. The yield was 0.76 %. The m.pt. was 201-203 deg.C and (alpha)D₂₂ (methanol, 1.00) was minus 1.00.

CHOSEN-DRAWING: Dwg.0/0

TITLE-TERMS: ISOLATE PURIFICATION GINSENO SIDE ANTI ARRHYTHMIC AGENT COMPRISE EXTRACT MEDICINE PLANT AQUEOUS ETHANOL WATER CONCENTRATE EXTRACT SUBJECT RESIN COLUMN CHROMATOGRAPHY

DERWENT-CLASS: B01

CPI-CODES: B04-A10; B14-F01A;

CHEMICAL-CODES:

Chemical Indexing M1 *00*

Fragmentation Code

M423 M720 M781 M903 N161 P521 V400 V406

SECONDARY-ACC-NO:

CPI Secondary Accession Numbers: C1995-077407

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平7-89863

(43)公開日 平成7年(1995)4月4日

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/78	ABQ Y	8217-4C		
	M	8217-4C		
C 0 7 J 17/00		9051-4C		
75/00		9051-4C		

審査請求 未請求 請求項の数2 FD (全4頁)

(21)出願番号	特願平5-261952	(71)出願人	000191766 森下ルセル株式会社 大阪府大阪市中央区道修町3丁目3番8号
(22)出願日	平成5年(1993)9月24日	(71)出願人	593193653 瀋陽藥學院 中華人民共和国遼寧省瀋陽市文化路103号
(72)発明者	陳 英傑 中華人民共和国遼寧省瀋陽市文化路103号 瀋陽藥學院内	(72)発明者	徐 ▲綏▼緒 中華人民共和国遼寧省瀋陽市文化路103号 瀋陽藥學院内
(74)代理人	弁理士 高良 尚志	(74)代理人	最終頁に続く

(54)【発明の名称】 ジンセノサイド-Re の単離精製法及び該化合物を主成分とする抗不整脈剤

(57)【要約】

【構成】 (1) 薬用植物からメタノール、エタノール、水等で成分を抽出し、その抽出液を濃縮し、樹脂カラムに付し、水洗後、含水メタノール又は含水エタノールで溶出し、その溶出液を濃縮し、析出した結晶を再結晶する工程からなるジンセノサイド-Reの単離精製法。

(2) ジンセノサイド-Reを主成分とする抗不整脈剤。

【効果】 薬用植物からのジンセノサイド-Reの単離精製が容易となり、該化合物を主成分とする有効性及び安全性が共に優れた抗不整脈剤を提供することができる。

1

2

【特許請求の範囲】

【請求項1】 次のA～Eの工程からなることを特徴とするジンセノサイド-R_eの単離精製法。

(A) メタノール、含水メタノール、エタノール、含水エタノール又は水を用いて薬用植物から含有成分を抽出する工程、

(B) 抽出液を濃縮する工程、

(C) 濃縮液を樹脂カラムに付し、カラムに水を通して溶出液を除き、次いで含水メタノール又は含水エタノールで溶出する工程、

(D) 含水メタノール又は含水エタノールによる溶出液を濃縮して結晶を析出させる工程、

(E) 再結晶により精製する工程。

【請求項2】 ジンセノサイド-R_eを主成分とする抗不整脈剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、ジンセノサイド-R_eを薬用植物から単離精製する方法及び該化合物を主成分とする抗不整脈剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 ジンセノサイド-R_eは、例えば三七人参等の薬用植物をメタノールで抽出処理し、得られたエキスをn-ブタノールと水との間に分配してn-ブタノール層をとり、これを濃縮し、シリカゲルカラムにかける方法により単離精製されていた。この化合物の構造はすでに確認されており〔Chem. Pharm. Bull. 22, 2407-2414 (1974)〕、疲労回復促進作用、抗血小板凝集抑制作用、抗胃潰瘍作用、血液生成促進作用等の薬理活性を示すことが知られている。しかし、この化合物が抗不整脈作用を示すことについては未だ開示されていない。

【0003】

【発明が解決しようとする課題】 本発明の課題は、有用な種々の薬理活性を有するジンセノサイド-R_eを薬用植物から、より簡単な操作で単離精製する方法を提供し、さらには、該化合物を有効成分とする優れた抗不整脈剤を提供することにある。

【0004】

【課題を解決するための手段】 本発明者らは、上記課題について鋭意研究した結果、所期の目的を達成する本発明を完成することができた。

【0005】 すなわち、第一の発明は、薬用植物からジンセノサイド-R_eを単離精製する方法に関し、次のA～Eの工程からなる。

(A) メタノール、含水メタノール、エタノール、含水エタノール又は水を用いて薬用植物から含有成分を抽出する工程、(B) 抽出液を濃縮する工程、(C) 濃縮液を樹脂カラムに付し、カラムに水を通して溶出液を除き、次いで含水メタノール又は含水エタノールで溶出す

る工程、(D) 含水メタノール又は含水エタノールによる溶出液を濃縮して結晶を析出させる工程、(E) 再結晶により精製する工程。

【0006】 前記の薬用植物としては、薬用人参の根、葉、花蕾及び果実、三七人参(田七)、ヘチマ等が挙げられる。

【0007】 前記含水メタノール又は含水エタノールにおける水の占める割合は、それらを抽出に用いる場合は10～40(v/v)%が好ましく、カラムクロマトグラフィーの溶出に用いる場合は50～80(v/v)%が好ましい。

【0008】 次に第二の発明は、ジンセノサイド-R_eを主成分とする抗不整脈剤を提供するものである。

【0009】 ジンセノサイド-R_eは、通常、製剤化して用いられる。その製剤化に際して特に困難はなく、製剤上の添加剤を用いて常法により錠剤、顆粒剤、細粒剤、カプセル剤等の経口用製剤とすることができます、また、蒸留水に溶かし、渾過、容器への充填、密閉、滅菌して注射剤とすることができます。

20 【0010】 ジンセノサイド-R_eの投与量は、例えば成人男子の一日当たりで、経口投与の場合は30～600mgの範囲内、経静脈投与の場合は10～200mgの範囲内で病態に応じて適宜増減すればよい。一日の投与回数は通常1～3回である。

【0011】

【作用】 第一発明のジンセノサイド-R_eの単離精製法では、処理が容易な樹脂カラムクロマトグラフィーを採用し、溶出溶媒として含水メタノール又は含水エタノールを用いたことにより該化合物を単離することができ、従来行われていた煩雑にして時間が掛かる二つの工程、すなわち水及びn-ブタノール間の分配工程とシリカゲルカラムクロマトグラフィーの工程を省くことができる。また、第二発明の主成分であるジンセノサイド-R_eは、毒性が低く、優れた抗不整脈作用を示す。

【0012】

【実施例】 薬用人参の花蕾5kgに対し70%エタノール50リットルと30リットルを用いてそれぞれ抽出操作を行い、得られた抽出液を減圧濃縮した。濃縮液を樹脂(D101; 5kg)カラムに付し、蒸留水30リットルを流した後、30%エタノール30リットルで溶出した。この溶出液を減圧濃縮し、24時間放置した後、析出した粗結晶を渾取した。この粗結晶を70%メタノールから再結晶してジンセノサイド-R_eの無色針状晶38g(収率0.76%)を得た。

融点: 201～203°C

$[\alpha]_{D}^{22}$ (メタノール, 1.00) : -1.00

元素分析 (C₁₈H₃₂O₁₈ · 2H₂Oとして)

理論値: C 58.63; H 8.82

実測値: C 58.64; H 8.83

IR ν_{max} : 3380(OH), 1620(C

3

=C)

¹³C-NMR : 39.4(C-1), 27.4(C-2), 78.7(C-3), 39.4(C-4), 60.7(C-5), 74.6(C-6), 45.7(C-7), 41.0(C-8), 49.4(C-9), 39.4(C-10)

30.6(C-11), 70.3(C-12), 48.8(C-13), 51.3(C-14), 30.6(C-15), 26.5(C-16), 51.8(C-17), 17.4(C-18), 17.4(C-19), 83.2(C-20), 22.4(C-21), 35.8(C-22), 23.3(C-23), 125.7(C-24), 130.9(C-25), 25.7(C-26), 17.7(C-27), 32.0(C-28), 17.1(C-29), 17.1(C-30)

6-Glc : 101.6(1'), 79.1(2'), 78.0(3'), 72.1(4'), 78.0(5'), 62.9(6')

Rham : 101.6(1"), 72.1(2"), 72.1(3"), 73.8(4"), 69.3(5"), 18.6(6")

20-glc : 98.1(1''), 75.0(2''), 79.1(3''), 71.1(4''), 78.5(5''), 62.7(6'')

【0013】試験例1
体重 180~240 g のウイスター系ラット（雌雄各5匹ず）*

4

* つの計10匹を1群とし、6群使用)を10%抱水クロール(0.3g/kgを皮下注射)で麻酔して正常心電図を記録した。その後、ラットの舌下静脈に0.3%塩化バリウム水溶液(1mg/kg)を注射し、心電図上に不整脈を観測してから1分間経過したとき、ジンセノサイド-Reを舌下静脈に注射した。各群に対する投与量は、

1群 ··· 1mg/kg 4群 ··· 10mg/kg

2群 ··· 4mg/kg 5群 ··· 20mg/kg

3群 ··· 5mg/kg 6群 ··· 40mg/kg

とした。その注射後に回復した正常心電図の持続時間を測定し、結果を表1に示した。

【0014】
【表1】

群	正常心電図持続時間(分)	群	正常心電図持続時間(分)
1	1.10 ± 0.56	4	8.21 ± 7.48
2	1.65 ± 0.71	5	24.80 ± 7.43
3	2.60 ± 1.38	6	24.80 ± 11.63

【0015】上記結果から、ジンセノサイド-Reが塩化バリウム誘導の不整脈に対し用量依存的に抗不整脈作用を示すこと、そしてED₅₀値及びED₉₅値を算出すれば、それぞれ12.5mg/kg及び18.3mg/kgとなることが判った。

【0016】試験例2
250mlのガラス製容器に体重25±5gの健常マウスと2mlのクロロホルムを含ませた脱脂綿を入れ、麻酔状態から呼吸停止に至ったマウスを速やかに取り出

※し、心電図を記録した。そのとき心室細動(VF)が認められたマウス(雌雄同数)を選んで次の実験に用いた。試験薬を、マウスの尾静脈から投与してから5分後、あるいは経口投与してから60分後に、前記と同様にして呼吸停止直後の心電図を測定し、VF発生の有無を確認した。その結果を表2に示した。

【0017】
【表2】

群	投与化合物	投与経路	投与量	VF発生数／全数
1	ジンセノサイド-Re	尾静脈	1mg/kg	3/10
2	ジンセノサイド-Re	尾静脈	10mg/kg	1/10
3	ジンセノサイド-Re	経口	20mg/kg	0/11
4	ジンセノサイド-Re	経口	30mg/kg	0/11
対照1	生理食塩水のみ	尾静脈	1mg/kg	9/10
対照2	プロプラノール	尾静脈	1mg/kg	1/10

【0018】上記結果から、ジンセノサイド-Reはクロロホルム誘導の心室細動(VF)に対して優れた予防

作用を示すことが判明した。

【0019】試験例3

体重 210~250 g のウイスター系ラットにペントバルビタールのナトリウム塩 (6.0 mg/kg) を腹腔内投与して麻酔し、正常心電図を記録した。次に、ラットの尾静脈から被験薬を投与した。その3分後にピツイトリン (0.5 μg/kg) を投与して心電図を記録し、10秒、30秒、1分、2分、3分、5分、10分及び20分経過毎にT波の変化、心臓のリズム及び脈拍について調べた。その結果、生理食塩水投与群 (1 ml/kg、11匹/群) では全例に不整脈が認められたが、ジンセノサイド-Re投与群 (10 mmol/kg、10匹/群) では全例が正常であった。

【0020】すなわち、ジンセノサイド-Reは、ピツイトリン誘導の虚血性不整脈に対して優れた予防作用を

示すことが判明した。

【0021】試験例4

体重 210~250 g のウイスター系ラットを用いてジンセノサイド-Reの静脈注射による LD₅₀ 値を求めた結果、234.2 ± 35.8 mg/kg となった。一方、対照としてリドカイン及びプロプラノールの LD₅₀ 値を求めたところ、それぞれ 26 mg/kg 及び 27 mg/kg であった。

【0022】上記結果から、ジンセノサイド-Reの毒性は極めて低いことが分かる。

【0023】

【発明の効果】本発明によれば、薬用植物からジンセノサイド-Reを簡単かつ安価に単離精製することができ、工業化が可能である。また、有効性及び安全性が共に優れた抗不整脈剤を提供することができる。

フロントページの続き

(72) 発明者 裴 玉萍

中華人民共和国遼寧省瀋陽市文化路103号
瀋陽薬学院内

(72) 発明者 王 紅燕

中華人民共和国遼寧省瀋陽市文化路103号
瀋陽薬学院内

(72) 発明者 劉 崇銘

中華人民共和国遼寧省瀋陽市文化路103号
瀋陽薬学院内

(72) 発明者 姚 新生

中華人民共和国遼寧省瀋陽市文化路103号
瀋陽薬学院内